

哺乳類における睡眠及び老化を制御する視床下部特異的シグナル伝達系の解明 (28-47)

主任研究者 佐藤 亜希子 国立長寿医療研究センター 中枢性老化・睡眠制御研究プロジェクトチーム (プロジェクトリーダー)

研究要旨

睡眠は、哺乳動物の生理現象としてだけではなく、アルツハイマー型認知症や 2 型糖尿病などの老年性疾患の発症に関与していることが明らかにされている。老化に伴い睡眠の断片化や睡眠の質的低下が起こることが知られているが、その詳細な分子機序については未だ不明であり、老年性疾患との関連性も不明な点が多い。視床下部は睡眠制御を司る主要な脳領域の一つとして知られている。申請者はこれまでに、老化・寿命を制御する上で重要な役割を果たしている視床下部背内側核(DMH)において、哺乳類サーチュイン Sirt1 またその分子パートナーである転写因子 Nkx2-1 をノックダウンしたマウスで、睡眠の質が著しく低下することを見出した(Satoh *et al.*, *Cell Metab.* 2013)。更に DMH 特異的遺伝子群の中から、Sirt1/Nkx2-1 シグナル伝達系の下流で働く遺伝子として、睡眠を特異的に制御する PR domain-containing protein 13 (*Prdm13*)を同定した(Satoh *et al.*, *Aging Cell* 2015)。*Prdm13*発現量は老化により低下し、一方、カロリー制限や長寿マウスでは増加する。このことから、DMH の *Prdm13* 発現量低下が老化に伴う睡眠障害を引き起こし、さらに全身の老化現象を引き起こす役割を持っているのではないかと考えている。そこで、視床下部による睡眠制御のメカニズムを解明し、さらに睡眠制御と老化制御との関係性を明らかにする為に、(1)DMH の *Prdm13* を含むシグナル伝達系による睡眠分子制御機序の解明、そして、(2)睡眠制限が視床下部、脳幹及び視床のシグナル伝達系を介して全身の老化現象に及ぼす影響の検討を行う。

主任研究者

佐藤 亜希子 国立長寿医療研究センター 中枢性老化・睡眠制御研究プロジェクトチーム (プロジェクトリーダー)

分担研究者

なし。

A. 研究目的

視床下部による睡眠制御のメカニズムを解明し、さらに睡眠制御と老化制御との関係性を明らかにする為に、(1)DMHのPrdm13を含むシグナル伝達系による睡眠分子制御機序の解明、そして、(2)睡眠制限が視床下部、脳幹及び視床のシグナル伝達系を介して全身の老化現象に及ぼす影響の検討を行う。

B. 研究方法

目的1) DMHのPrdm13を含むシグナル伝達系による睡眠分子制御機序の解明：DMHのPrdm13を含むシグナル伝達系による睡眠分子制御機序を解明するため、遺伝子改変モデルマウスを作製、electroencephalogram/ electromyogramにより睡眠解析を行う。また同時に、睡眠恒常性機能を評価するため、睡眠制限への反応性を検討する。今年度は、モデルマウスの作製準備と繁殖を実施した。

目的2) 睡眠制限が視床下部、脳幹及び視床のシグナル伝達系を介して全身の老化現象に及ぼす影響の検討：睡眠制限が視床下部、脳幹及び視床のシグナル伝達系を介して全身の老化現象への影響を*in vitro*で検討するために、今年度は、E17マウスから視床下部神経細胞を単離し、ケトン体を培養神経に添加し、神経活動量や遺伝子発現変化を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究では、ヒト試料を対象とする研究は実施しなかった。一方、すべての研究に関わる動物実験に関しては、実験動物の福祉を順守し、動物愛護上の配慮を踏まえて的確に管理した。

C. 研究結果

目的1) DMHのPrdm13を含むシグナル伝達系による睡眠分子制御機序の解明：若齢、及び老齢マウスの睡眠解析データを集積することで睡眠の加齢変化の基準を定め、その後、遺伝子改変モデルマウスや睡眠制限モデルマウスの解析に移行する予定である。現在、モデルマウス作製が遅延しているが、進行中で、最終年度中にこれらマウスモデルを使った睡眠解析を実施・完了する予定である。

目的2) 睡眠制限が視床下部、脳幹及び視床のシグナル伝達系を介して全身の老化現象に及ぼす影響の検討：睡眠制限時に血中で増加するケトン体を処置した初代培養視床下部神経細胞では、Egr-1、cFos、FosBのmRNA発現量が有意に増加することが示された。また、Prdm13ノックダウン神経細胞では、ケトン体添加により増加するEgr-1、cFos、FosBのmRNA発現量が、統計的に有意に減少した。現在、その分子作用機序を検討中である。また、マウスにケトン体を腹腔内投与すると、投与30-90分後に視床下部神経が活性化さ

れることが示された。これらの結果から、睡眠制限による視床下部神経の反応性変化には、ケトン体を介するシグナルが関与しており、Prdm13 陽性細胞がその制御に関与していることが示唆された。

D. 考察と結論

老化に伴う睡眠変化（睡眠の質的低下、睡眠断片化）については、これまでも報告されていたが、老化に伴う睡眠の断片化については、本センター動物実験施設で実施した解析結果により再現性が確認された。睡眠制限への反応性の検討では、睡眠からの直接作用を検討する為には、実験時の種々のパラメーター（食餌条件、床敷、タイミング、等）を考慮した上で実施する事が重要である、という結論を得た。これまでに、睡眠制限の実験は数多く実施されている。しかしながら、プロトコールの詳細については、意外にも明記されていることは稀である。今回明らかになった、食餌条件や床敷等の基本的な実験実施条件を明記することは、学術的に非常に重要であると考え、次年度以降に、これら差異を論文化する予定である。

また、睡眠制御もしくは睡眠制限への反応性について、性差などの情報も集積する必要があると考えている。これまでに、睡眠・覚醒制御を司る視床下部に局在する神経細胞群は代謝制御にも関与している（代謝産物や代謝制御に関わるホルモンへの受容体が発現している）ことが少なくない。従って、睡眠制限における性差を明確にする事も、学術的に重要である。

ケトン体は睡眠・覚醒を制御する上で重要な代謝産物であることから、末梢組織シグナルとしてケトン体が血流を介して脳内に伝達され、その結果、視床下部神経細胞の加齢変化をもたらす可能性も考えられる。本年度の研究成果から、少なくとも、視床下部 Prdm13 陽性細胞はケトン体への反応性に何らかの影響を与えるようである。これが、睡眠制限時なのか、または睡眠制限後の回復睡眠時なのか、更なる検討が必要である。一方、定常状態の血中ケトン体量に加齢変化が認められる、という知見も報告されている。従って、睡眠制限により増大するケトン体産生能に加齢変化があるのか、考慮する必要がある。

本年度の実験経過と成果を踏まえて、最終年度には、視床下部の睡眠制御機序についてモデルマウスを用いた解析と分子生物学的手法を用い論文作成を視野に入れて研究課題を遂行する予定である。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Satoh A, Imai S, Guarente LP. The brain, ageing, and sirtuins.

Nat. Rev. Neurosci. 18:362-374, 2017.

- 2) Satoh A*, and Iijima MK*

Roles of tau pathology in the locus coeruleus (LC) in age-associated pathophysiology and Alzheimer's disease pathogenesis: Potential strategies to protect the LC against aging.

Brain Research, pii: S0006-8993(17)30562-0, 2017. (*Co-corresponding authors).

- 3) 佐藤 亜希子

視床下部における睡眠および体温調節のメカニズムと哺乳類の老化・寿命制御の関係.

実験医学増刊号. 35:3351-3356, 2017.

2. 学会発表

- 1) Satoh A.

The role of hypothalamic sirtuin in sleep and aging.

International Aging Symposium Session II "Mechanism of Cellular Senescence and Aging",
The 40th Annual Meeting of Japan Society for Biomedical Gerontology. June 15-16, 2017,
Nagoya.

- 2) Satoh A.

Role of the dorsomedial hypothalamus in mammalian aging and sleep.

16th Surugadai International Symposium&Joint Usage/Research Program of Medical
Research Institute International Symposium, October 11, 2017, Tokyo.

- 3) 佐藤 亜希子

哺乳類サーチュインを介した視床下部の全身性老化制御機構-老齢マウスに認められる睡眠変化の分子メカニズムと全身性の老化形質-

第18回 アロマ・サイエンス・フォーラム、2017年10月27日、東京.

- 4) 佐藤 亜希子

哺乳類における視床下部神経を介した睡眠・老化・個体寿命の制御機構.

日本農芸化学会 2018年度大会シンポジウム『寿命・老化の理解に迫る実験系と方法論』、2018年3月18日、名古屋.

5) Satoh A.

Hypothalamic regulation of sleep and aging through mammalian sirtuins.
CDB Symposium, March 27-29, 2018, Kobe.

6) Satoh A.

Hypothalamic Sirtuins and mTOR Signaling Pathway: A Key Regulator of Sleep, Aging and Longevity.
Gordon Research Conference on Biology of Aging, July 9-14, 2017, Les Diablerets, Switzerland.

7) Satoh A.

Hypothalamic Regulation of Aging and Longevity through Mammalian Sirtuins. Special seminar at the Center for Plant Aging Research, Institute for Basic Science (IBS), November 8, 2017, Daegu, Korea.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。